

UNIwersytet w Białymstoku

Wydział Biologiczno-Chemiczny Instytut Chemii



15-245 Białystok, ul. Ciołkowskiego 1K, ☎ (-48-85) 7388086, fax: (-48-85) 7388099 e-mail: wit@uwb.edu.pl

Dr hab. Stanisław Witkowski, prof. UwB

Białystok, 14.08.2019

RECENZJA

rozprawy doktorskiej mgra Kamila Lisieckiego

„Synteza lignanów i ich pochodnych z wykorzystaniem procesu fotocyklizacji”

Przedstawiona do recenzji dysertacja doktorska „Synteza lignanów i ich pochodnych z wykorzystaniem procesu fotocyklizacji” autorstwa mgra Kamila Lisieckiego wykonana została w Pracowni Chemii Związków Naturalnych Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego, gdzie promotor pracy prof. Zbigniew Czarnocki od wielu lat z sukcesem rozwija badania nad syntezą związków biologicznie czynnych. Praca jest rozwinięciem wcześniejszych prac dotyczących asymetrycznej syntezy cyklolignanów z uwagi na brak ogólnych, tanich i stereoselektywnych metod syntezy tego typu układów. Ponadto, celem było wprowadzenie modyfikacji chemicznych, poprawiających biodostępność, stabilność czy rozpuszczalność w aspekcie ich potencjalnego zastosowania terapeutycznego. A zaznaczyć należy, że lignany są szeroko rozpowszechnioną grupą związków naturalnych o dużym zróżnicowaniu strukturalnym i właściwościach biologicznych, takich jak: przeciwnowotworowa, przeciwwirusowa, hepatoprotekcyjna, przeciwgrzybicza, przeciwzapalna itp. Najlepiej poznanym spośród lignanów jest wykazująca aktywność przeciwwirusową i przeciwnowotworową, podofilotoksyna. Jednakże zapotrzebowanie na nią jak i jej pochodne niemal całkowicie wyczerpało źródła naturalne.

Doktorant podjął się konstrukcji szkieletu węglowego docelowej struktury cykloliganu wykorzystując słabo, jak dotychczas zbadaną, fotocyklizację chiralnej pochodnej kwasu fulgenowego.

Praca doktorska zawiera 191 stron tekstu i jest rzetelnie udokumentowana od strony literaturowej (206 pozycji cytowanych). Wyniki prezentowanych badań zostały opublikowane w sześciu wysoko punktowanych publikacjach o zasięgu międzynarodowym. W pięciu z nich mgr Kamil Lisiecki jest pierwszym autorem, a w jednej drugim.

Układ pracy jest typowy. Po części wstępnej, zawierającej spis treści, wykaz skrótów i listę publikacji, następuje streszczenie oraz cel i założenia pracy. W następnej kolejności przedstawiony został bardzo

wyczerpujący przegląd literaturowy i dalej, omówienie wyników badań własnych, ich podsumowanie, aż wreszcie część doświadczalna oraz wykaz literatury cytowanej.

W części literaturowej doktorant dokonał wprowadzenia w zagadnienia występowania lignanów, ich biosyntezy oraz przedstawił typowe układy reprezentujące tę grupę produktów naturalnych. Szczególnie dużo uwagi autor poświęcił podofilotoksynie, najlepiej zbadanemu i najszerzej badanemu cyklolignanowi. Związek ten, jak i liczne naturalne oraz syntetyczne pochodne, wykazują szereg aktywności biologicznych, głównie działanie przeciwwirusowe i przeciwnowotworowe. Są one strukturami wiodącymi w poszukiwaniu nowych leków na drodze modyfikacji strukturalnych. Przykładowo, takie z nich jak etopozyd, tenipozyd czy fosforan etopozydu, znalazły już zastosowanie w terapii licznych nowotworów. Autor opisał bardzo szczegółowo aspekty molekularne zależności struktura-aktywność poszczególnych elementów cząsteczki, które warunkują cytotoksyczność układu i wynikające stąd możliwości modyfikacji układu w celu uzyskania bardziej skutecznych i selektywnych analogów. Najczęściej modyfikowanymi pierścieniami są C i D. Przykładowo, konfiguracja *trans*-laktonowego pierścienia D zapewnia wyższą aktywność, jakkolwiek struktury z otwartym pierścieniem lub innym układem heterocyklicznym wiążą się również z tubuliną. Istotnym wymogiem geometrycznym jest niemal prostopadła orientacja pierścienia E do płaszczyzny A-B-C, a także jego swobodna rotacja. Z kolei demetylacja w *para*-pozycji tego pierścienia (C-4') sprzyja inhibicji topoizomerazy II, ale obniża aktywność inhibicyjną polimeryzacji tubuliny. Pierścień C jest modyfikowany najczęściej w pozycjach C-1 i C-4. Na przykład, zmiana konfiguracji na C-4 spowalnia polimeryzację tubuliny, ale jest także przyczyną inhibicji topoizomerazy II. Te wyrywkowe przykłady manipulacji syntetycznych opisanych w bardzo bogatej literaturze, które doktorant bardzo obszernie omówił, zostały później częściowo wykorzystane w interpretacji uzyskanych wyników eksperymentalnych.

W dalszej części doktorant przedstawił zasadnicze strategie syntezy podofilotoksyny: sprzężonej addycji tandemowej, reakcji Dielsa-Aldera oraz syntezy biomimetycznej. Szczególnie istotnym problemem, ale i ambitnym, jest asymetryczna synteza cyklolignanów. Klasyczna metoda polegająca na rozdziale racematów na enancjomery jest niezbyt wydajna. Inne metody to te, z użyciem chiralnych substratów. W literaturze znaleźć można dużą ilość przykładów: z użyciem chiralnego γ -laktonu, chiralnych oksazolin i oksazolidyn, mentolu, estrów kwasu mlekowego i migdałowego, czy chiralnych sulfotlenków.

Istotną reakcją, dostarczającą kluczowego substratu jako prekursora w syntezie cyklolignanów, jest synteza kwasu fulgenowego na drodze podwójnej kondensacji Stobbego. Dzięki reakcji estru kwasu bursztynowego z aldehydami lub ketonami wobec katalizatora zasadowego można dwuetapowo otrzymać kwasy bisbenzyliidenobursztynowe, zwane fulgenowymi, a których pochodne wykazujące ciekawe właściwości fotochemiczne.

Kończącą część przeglądu literaturowego doktorant poświęcił podstawowym zagadnieniom fotochemicznej syntezy organicznej, szczególnie prowadzonej w przepływie, która stanowi kluczowe narzędzie, wykorzystane w opiniowanej pracy. Zastosowanie tej techniki w syntezie cyklolignanów stanowi

bardzo istotne osiągnięcie niniejszej pracy. Ogólniej mówiąc, dzięki tej technice nawet rozbudowane struktury chemiczne mogą być konstruowane w sposób ciągły w zaprojektowanym reaktorze w odpowiednio kontrolowanych warunkach. Pojawia się coraz więcej doniesień stwierdzających, że przeważa ona nad metodami konwencjonalnymi, dzięki lepszej wydajności i produktywności. Z powodu tych zalet, tę metodologię z powodzeniem wykorzystuje się obecnie w syntezie produktów naturalnych oraz produkcji farmaceutyków.

Przechodząc do wyników eksperymentalnych, stanowiących sedno opiniowanej pracy należy zauważyć, że doktorant podjął się syntezy szkieletu węglowego struktury docelowej cyklolignanu wykorzystując słabo, jak dotychczas zbadaną, fotocyklizację chiralnej pochodnej kwasu fulgenowego, dokonując totalnej syntezy (-)-podofilotoksyny i (+)-epigalcatyny z wykorzystaniem L-prolinolu jako pomocnika chiralnego. Należy zauważyć, że jest to nawiązanie do wcześniejszych prac prof. Czarnockiego i wsp., którzy zwrócili uwagę na ogromny potencjał fotocyklizacji pochodnych kwasów bisbenzylidenobursztynowego (kwasu fulgenowego) zawierających pomocnik chiralny oraz możliwość jej zastosowania do syntezy stereoselektywnej 1,2-*cis*-cyklolignanów, wykazujących najsilniejszą aktywność biologiczną.

Metoda fotocyklizacji kwasu fulgenowego jest słabo rozpoznana i bywa często pomijana w artykułach przeglądowych.

W pierwszym etapie swych badań doktorant zsyntezował podstawowy, niesymetryczny substrat, będący produktem podwójnej kondensacji Stobbeo bursztynianu dimetylu, najpierw z piperonalem, a następnie z 3,4,5-trimetoksybenzaldehydem. Tak uzyskany układ 2,3-bisbenzylidenobursztynowy został poddany makrocyklizacji do amidoestru **199**, zawierającego czynnik chiralny: L-prolinol. W celu przeprowadzenia efektywnej fotocyklizacji tego układu użyty został oryginalnie skonstruowany reaktor kwarcowy, w którym w przepływie rozcieńczony metanolowy roztwór reagenta z dodatkiem 0.01 mM TFA, zostawał napromieniowany przez średniociśnieniową lampą rtęciową UV. Dzięki odpowiedniemu doborowi parametrów procesu (rozpuszczalnik, rozcieńczenie, szybkość przepływu, temperatura) udało się doktorantowi opracować wydajną metodę fotocyklizacji, możliwą do realizacji na większą skalę. Produkt fotocyklizacji zawierający w makrocyklu chiralny człon L-prolinolu został przez transestryfikację przekształcony w 1,2-*cis*-amidoester **203**, którego stereostruktura została dokładnie ustalona za pomocą technik NMR-owskich, a także pomiarom rentgenostrukturalnym. Dowiedziona została stereoselektywność oraz regioselektywność fotocyklizacji związku **199**. Próby dalszych przekształceń, nie bez problemów, doprowadziły do otrzymania hydroksymetyloestru **208**, będącego prekursorem podofilotoksyny i pochodnych. Należy podkreślić, że ten wynik jest bardzo wartościowy, ponieważ dwukrotnie została podwyższona wydajność reakcji (do 61%), a także produktywność (ilość związku otrzymana w określonym czasie). Na uwagę zasługuje także fakt, że opracowana została metodologia z użyciem tanich i łatwo dostępnych substratów. Ponadto, istnieje możliwość zwiększenie skali procesu.

Opracowana fotochemiczna metodologia syntezy 1,2-*cis*-cyklolignanów została w dalszej części pracy wykorzystana w syntezie (+)-epigalcatyny – stereoizomeru nie występującego w przyrodzie. Bazując na zdobytym wcześniej doświadczeniu, doktorant otrzymał za pomocą reakcji Stobbe'a analogiczny do otrzymanego w poprzedniej syntezie kwas bisbenzylidenobursztynowy, w którym jedna reszta benzylidenowa pochodziła od piperonalu, a druga od 3,4-dimetoksybenzaldehydu. Dalej, produkt został przekształcony w chiralny makrocykl **218** zawierający L-prolinol, który również po fotocyklizacji w odpowiednio dobranych warunkach i następnej transestryfikacji dawał wydajnie 1,2-*cis*-cyklolignan w postaci amidoestru **220**. Konfiguracja centrów stereogenicznych: C-1 i C-2 została ustalona za pomocą korelacyjnych eksperymentów NMR-owskich. W trakcie kilku dalszych przekształceń uzyskana została docelowa (+)-epigalcatyna w postaci pojedynczego diastereomeru z całkowitą wydajnością 5% (po 11-stu etapach). Potwierdza to dużą wartość syntetyczną opracowanej metody fotocyklizacji w syntezie 1,2-*cis*-cyklolignanów nie występujących w naturze, wychodząc również z łatwo dostępnych i tanich substratów.

Kolejnym wątkiem podjętym w dysertacji była próba zastosowania jako pomocnika chiralnego aminokwasu L-proliny w fotochemicznej syntezie cyklolignanów, zamiast używanego wcześniej L-prolinolu. W tym celu doktorant zsyntezował prekursor cyklolignanu, który zawierał tylko jedną grupę karbonylową sprzężoną z resztą benzylową. Dzięki temu mogłaby zostać wymuszona fotocyklizacja regioselektywna, ponieważ proces rozpoczyna się od wzbudzenia grupy karbonylowej i wytworzeniu luki elektronowej na benzylidenowym wiązaniu podwójnym. Jednakże wprowadzenie chiralnej reszty L-proliny nastręczyło licznych trudności związanych z wprowadzaniem i usuwaniem grup zabezpieczających, które prowadziły do laktonu z eliminacją chiralnej reszty prolinowej. Ostatecznie 8-członowy pierścień heterocykliczny, zawierający zarówno wiązanie laktonowe jak i laktamowe, okazał się mało trwały w warunkach oczyszczania chromatograficznego, dlatego surowy związek **254** poddany został fotocyklizacji w przepływie w roztworach: metanolem i toluenem. W obu przypadkach powstawały produkty optycznie nieaktywne. Doprowadziło to doktoranta do interesującego wniosku, że w tych warunkach następuje rzadko spotykany fotochemiczny rozpad wiązania amidowego, zachodzący z eliminacją chiralnego fragmentu L-proliny. Reakcja ta została przebadana również na modelowym analogu zawierającym ugrupowanie N,N-dietyloamidowe z podobnym efektem (eliminacja dietyloaminy i powstawanie laktonu). Zatem, docelowy produkt nie został otrzymany, jakkolwiek zaobserwowany efekt pozwala na wykorzystanie ugrupowania bisbenzylidenobursztynowego jako fotolabilnej grupy ochronnej amin drugorzędowych. Ostatecznie, reakcja okazała się przydatna w syntezie cyklolignanów o różnym podstawieniu grupami benzylidenowymi. Otrzymano ($\pm$)- β -apopikropodofilinę, jej izomer oraz nieopisany lignan arylnaftalenowy o potencjalnej aktywności przeciwnowotworowej.

Kolejnym, istotnym wątkiem podjętym w pracy była synteza w niezbadanej klasie cyklolignanów, zawierających grupę metylową w pozycji 1 (1-*R*), która może wywierać wpływ na kąt nachylenia pierścienia trimetoksybenzylowego względem uśrednionej płaszczyzny cząsteczki, a co może skutkować silniejszym wiązaniem się do tubuliny lub topoizomerazy II. Przeprowadzona została, jak wcześniej, synteza

odpowiedniego substratu do badań fotocyklizacji, gdzie w kondensacji Stobbe, zamiast trimetoksybenzaldehydu, użyty został odpowiedni trimetoksyacetofenon. Dalej, wprowadzony został chiralny fragment L-prolinolu. Na podstawie badań spektroskopowych i rentgenostrukturalnych ustalona została konfiguracja podwójnych wiązań benzyliidenowych w produkcie, nie E/E jak wcześniej, a E/Z. Produkt ten, po odpowiedniej makrolaktonizacji, poddany został fotocyklizacji stosując metodologię jak wcześniej (metanol, $\lambda_{\max}$ 360 nm). Jednakże, zamiast spodziewanej 1-metylopodofilotoksyny doktorant otrzymał cyklolignan **301**, a jego stereostruktura została potwierdzona za pomocą NMR-owskich technik korelacyjnych. Okazało się, że wprowadzona grupa metylowa determinuje regoselektywność procesu fotocyklizacji, ponieważ gdy grupa ta zastępuje jeden z benzyliidenowych atomów wodoru cyklizacja zachodzi preferencyjnie przez wzbudzenie amidowej grupy karbonylowej.

Podsumowując, należy stwierdzić, że doktorant zaprezentował bardzo wartościowy materiał eksperymentalny. Do największych osiągnięć z pewnością należy zaliczyć opracowanie wysoko wydajnej i skutecznej metody syntezy (-)-podofilotoksyny za pomocą fotocyklizacji w warunkach przepływowych pochodnych kwasu 2,3-bisbenzyliidenobursztynowego z użyciem pomocnika chiralnego: L-prolinolu. Metoda ta została zastosowana z sukcesem także w syntezie (+)-epigalcatyny. Należy podkreślić, że otwiera to drogę do syntezy układów cyklolignanowych o ważnym potencjalnym zastosowaniu terapeutycznym. Z kolei próby użycia L-proliny doprowadziły do ciekawej obserwacji, że kwasy bisbenzyliidenobursztynowe mogą posłużyć jako fotolabilne grupy ochronne amin drugorzędowych. Z kolei synteza docelowej (1R)-metylopodofilotoksyny wprawdzie nie powiodła się, ale dostarczyła ważnych obserwacji dotyczących pewnych reguł fotocyklizacji 2,3-bisbenzyliidenobursztynianów. Wprowadzona grupa metylowa determinuje regioselektywność fotocyklizacji makrocyklicznych amidoestrów kwasu fulgenowego. Siłą napędową fotocyklizacji jest wysoka gęstość elektronowa pierścieni aromatycznych grup benzyliidenowych, a podstawniki przy wiązaniu podwójnym determinują regioselektywność procesu fotocyklizacji. Z kolei użyty L-prolinol w charakterze pomocnika chiralnego, wywiera wpływ na stereoselektywność powstających podczas cyklizacji centrów stereogenicznych C-1 i C-2.

Pomimo dużego uznania dla wyników prac eksperymentalnych doktoranta, z obowiązków recenzenta zmuszony jestem zwrócić uwagę na szereg niedociągnięć językowych, skrótów myślowych, a także błędów technicznych. Doktorant używa czasami dziwnych, czy wręcz niepoprawnych sformułowań. Oto zauważone przykłady: obliczenia kwantowomechanistyczne (s. 76), abstraktor wodoru (s. 70), układ dedykowany reakcjom (s. 96), dekoracja pierścieni B, C i E (s. 104), kwasoester (s. 67), kwas zaimplementowany w syntezie (s. 49 i 53), światło UV i światło ultrafioletowe (s. 95), ester naftalenowy **83** (s.54), cetrum stereogenne (s. 108, 109 i 110), węgiel aktywowany (s. 109), protony atomów węgla C-1 i C-2'' (s. 97 i 99) oraz podpis Rys. 28 (s. 98), a także protony węgla C-2' i C-6 (s. 98), zasadowy nadmanganian (Schem. 20 s. 55), spektrometria UV (s. 44), grupa benzoesowa (s. 9).

Skrót TPPTS to nie p-toluenosulfonian pirydyniowy (s. 11); (na str. 49 jest to sufonowana trifenylofosfina (sól sodowa); p-toluenosulfonian pirydyniowy na s. 60 jest oznaczony jako PPTS.

Na Rys. 1 są błędne podpisy: Tetrahydrofuran i Benzofuran (s. 19). Czy nazwy te są przyjęte jako nazwy ogólne grup związków?

Deacetylacja cukrów metodą Zemplena to krótkie ogrzewanie acetylowanego cukru w metanolu wobec MeONa, a nie $ZnCl_2$ w metanolu (s. 30).

W pracy brakuje Schematu 30.

Związek **31** nie jest ditioacetalem (eter tiofenylowy) s. 45

W podpisie Schematu 11 (s. 46) błędnie oznaczony jest związek: **50** zamiast **40**.

Na str. 122 i 123 dwa schematy oznaczone tym samym numerem: 80.

Związki oznaczone numerami **237** (s. 116) i **254** (s. 122) to te same struktury.

Na str. 47 schemat oznaczony jako 12, powinien mieć numer 13.

W całej pracy w ułamkach dziesiętnych stosowane były kropki, a w części doświadczalnej przecinki.

Doktorant ma skłonność do nadużywania apostrofów w dopełniaczu nazwisk angielskich (np. Schwartz'a, ale na str. 67 zamiast „metodą Stillego” jest metodą Stilla).

Na kilku schematach nie podana jest kolejność dodawania odczynników np. Schem. 11 (s. 46), Schem. 12 (s. 47), Schem. 13 (s. 48), Schem. 17 (s. 51), Schem. 18 (s. 52), Schem. 19 (s. 53).

Autor nie ustrzegł się także znacznej liczby błędów literowych, czasem gramatycznych, interpunkcyjnych, czy braku znaków diakrytycznych. Poniżej lista zauważonych:

grupa *tert*-butylodimetylosililowa (zamiast *tert*-butylosililowa) s. 11; „ninejsze” s. 19; „ligananów” s. 23; „dokładnej” zamiast dokładniej s. 25; „zielono-żółta” zamiast zielonożółta s. 26; „zacetylowany” zamiast deacetylowany s. 30; „niepodstawiny” s. 35; liczne błędy literowe w podpisach na Rys. 14 s. 39; Rys. 15 (s.40), błąd „fragment benzimidazolu”; „wzpomniano” s.44; „enencjomery” s. 49; „silica gel” zamiast silikażel (s. 50) i Schem. 24 (s. 61); „enencjoselektywność” s. 52; „zastosowaną” zamiast zastosowano s. 54; „katalizatora” s. 54; „następnie” na Schem. 22 s. 57; „epimaryzacja” s. 63; Schem. 28, „DMAp” zamiast DMP s. 66; „ α -metylenowej” zamiast α -metylenowych s. 69; „początkowo” s. 72; „promieniowania” zamiast promieniowanie s. 73; „ciekłokrystalicznym” s. 74; „Chartlona” zamiast Charltona s. 74; „tą” zamiast tę, s. 77; „naświetalnia”, s. 77; „przekszatałceń” s. 78; „konwencjonalnych” s. 82; „subtratu” s. 83; „zawiązku” s. 84 i 92; „prowadzne” s. 84; „śrenicy” s. 85; „oblicznie” s. 86; „najczęściej” s. 86; „fólochemicznych” (w podpisie Tabeli 1) s. 87; „transparentny” s. 87; „polegące” s. 88; „**190**” zamiast **191** (po hydrolizie), s. 89; „bisbenzylideobursztynowych” s. 90; „makrolaktonazacji” s. 92; „powstącego” s. 92; „woków” s. 93; „najlepszym” zamiast najlepszych s. 93; „cykloligananu” s. 93; „pierszej” s. 94; „częściwo” s. 94; „skonstuować” s. 96; „umieszczony” s. 97; „opuszczający” s. 98; „przestrzenna” zamiast przestrzenną (w podpisie Rys. 31) s. 101; „regioselektywności” zamiast regioselektywność s. 101; „skutem” zamiast skutek s. 102; „hadlowo” s. 103; „podejście” s. 105; „wydajścią” s. 105; „transestyfikacji” s. 107; „waunkach” s. 107; „nasświetlanie, wydajność” (na Schem. 59) s. 107; „przesunąć” (w podpisie Rys. 34) s. 108; „t-butylotysykarbonylową” zamiast t-butoksykarbonylową s. 114; „pomino” s. 116; „wyizlowanych” s. 116; w Tabeli 7 (s. 121) nazwy angielskie: Base, Solvent, Temperature; „całkowia” (w podpisie Tabeli 7) s. 121; „prowadząc” zamiast prowadząc s. 123; „preakcyjnej” s. 125; „rozpuszalnik” na Schemacie 85 str. 130; „usunięcie” (2-krotnie na Schemacie 85) str. 130; „metylową” zamiast metylowa s. 131; „wykorzystuwać” s. 132; „potwierdzoną” zamiast potwierdzana s. 135; „regioselektywnosc, przechodząc” (na Schem. 92) s. 139; „każdy” zamiast każdym s. 139; „obencność” s. 140 i 145; „produktu” zamiast produkty s. 140; „danami” s. 140; „obeność” s. 145; „powstającychw” s.146; „widzialnego” zamiast widzialne ((s 145); „1,5 h” s. 153.

Pragnę jednak z całą mocą zaznaczyć, że o wartości pracy decyduje przede wszystkim materiał eksperymentalny oraz jasna, logiczna i spójna interpretacja wyników. A w tym aspekcie, praca jednoznacznie zasługuje na wysoką ocenę. Pewna ilość uchybień, przytoczonych powyżej, nie umniejsza jej wysokiej wartości. Doktorant wykazał się bardzo dobrą sprawnością warsztatową, prowadząc eksperymenty fotocyklizacji w oryginalnie skonstruowanym reaktorze, a także w preparatyce substratów i izolacji otrzymanych produktów syntez. Wykazał się także biegłością w interpretacji wyników, w posługiwaniu się metodami spektroskopowymi, głównie UV i NMR-owskimi technikami korelacyjnymi. Praca jest napisana językiem zrozumiałym, a każde zagadnienie wynikające z badań własnych kończy się odrębnym podsumowaniem, co znacznie ułatwia zrozumienie tekstu. Koncepcja pracy wydaje się być dobrze przemyślana. Ponadto, doktorant swobodnie korzystał z dostępnych danych literaturowych.

Stwierdzam zatem, że praca spełnia wymogi ustawy z dnia 14 marca 2003 roku o stopniach i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz.U nr 65 poz. 595 wraz z późniejszymi uzupełnieniami) i z pełnym przekonaniem wnoszę do Rady Wydziału Chemii Uniwersytetu Warszawskiego o dopuszczenie mgr Kamila Lisieckiego do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Witkowski